植物病理

病毒病害

感染馬鈴薯的馬鈴薯紡錘形塊莖類病毒之檢測技術開發 馬鈴薯紡錘形塊莖類病毒 (*Potato spindle tuber viroid*, PSTVd) 屬於馬鈴薯紡錘形塊莖類病毒科 *Pospiviroidae*，可經由種薯與汁液傳播，國外報告指出 PSTVd 嚴重者會造成馬鈴薯塊莖呈紡錘狀，且發生龜裂畸形，產量損失可達 60% 以上；然而 PSTVd 對臺灣馬鈴薯之影響仍有待評估。本研究設計專一性引子對 PSTVd-up 與 PSTVd-dw 進行反轉錄聚合酵素連鎖反應 (RT-PCR)，結果較現行農業委員會動植物防疫檢疫局 (防檢局) 公告「輸出植物種子特定病原檢測作業要點」之 PSTVd 引子對 DHL-55F/DHL-56R 與 Pospi1F/Pospi1R 之偵測靈敏度為高，利用此專一性引子對，分別於 106 及 107 年度調查田間的馬鈴薯樣本中是否有 PSTVd 的存在？結果顯示，106 年度調查的 91 個樣本中，有 68 個被檢測出 PSTVd；而 107 年度調查的 255 個樣本中，高達 248 個被檢測出 PSTVd。田間之 PSTVd 經選殖、定序與比對，證實臺灣的 PSTVd 類病毒株自成一群，與澳洲、紐西蘭類病毒株及日本類病毒株親緣相近，相似度介於 94.8~99.3%。進一步在引子對 PSTVd-up 與 PSTVd-dw 之間設計一探針 PSTVd-200P，發展即時反轉錄 - 聚合酶鏈鎖反應 (real-time RT-PCR) 進行分析，未來可提供在馬鈴薯種薯病害驗證作業中 PSTVd 的檢測，並可應用於生產健康種苗的自主管理 (圖 6-1)。

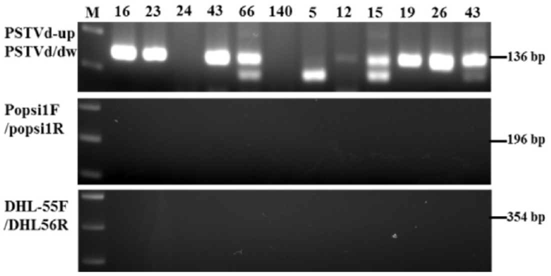

圖 6-1 自行設計專一性引子對與防檢局公告「輸出植物種子特定病原檢測作業要點」之引子對分別對田間的馬鈴薯進行 PSTVd 之 RT-PCR 的結果。

西瓜及胡瓜種子帶 CGMMV 或 ZYMV 之檢測與消毒處理 胡瓜綠斑嵌紋病毒 (*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV) 及矮南瓜黃化嵌紋病毒 (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV) 是各種瓜類的種傳 (seed-transmitted) 病毒，106 年以來送檢瓜類種子經以群體測試，檢測出 1 個批號 (6311T-KH) 西瓜種子帶有 CGMMV 及 ZYMV，檢出率經分析都為 72.77±21.83%；另有 1 個批號 (3512M-01) 胡瓜種子帶有 CGMMV，檢出率為 62.79±20.50%。收集帶病毒批號種子：西瓜 (6311T-KH) 及胡瓜 (3512M-01)，進行表 6-1 所列各項處理，比較其消除病毒及維持種子發芽率的效果，結果以磷酸三鈉溶液或漂白水處理可消除種子上多數 CGMMV 及 ZYMV，但磷酸三鈉會造成西瓜種子發芽率降低，對胡瓜種子則無影響 (表 6-1)。

表 6-1 比較消毒處理方式消除病毒及維持種子發芽率的效果

處理	主成分	劑量	時間	西瓜種子 (6311T-KH) 病毒檢出 (%) CGMMV	ZYMV	發芽率 %	胡瓜種子 (3512M-01) 病毒 (%) CGMMV	發芽率 %
不處理	-	-	-	34.44	45.56	72.2	17.78	96.6
乾熱	-	70℃	2 day	31.11	42.22	46.6	13.33	97.7
漂白水	6.25% NaClO	10%	15 min	3.33	1.11	71.1	3.33	94.4
漂白水	6.25% NaClO	10%	2 hr	3.33	1.11	92.2	4.44	96.6
氯酸溶液 [Z]	10-30 ppm HClO	10%	2 hr	25.56	16.67	84.4	3.33	98.8
磷酸三鈉溶液	Na_3PO_4	10%	2 hr	1.11	6.67	7.7	2.22	100
KNF2016 [Y]	virucide	10%	2 hr	15.56	7.78	12.2	10.00	96.6
保麗淨清潔錠 [X]	過硫酸鉀等	1 錠 / 25ml	2 hr	18.89	25.56	7.7	5.56	96.6
酒精	藥用酒精	75%	2 hr	34.44	34.44	0.0	5.56	0.0
水	逆滲透水	-	2 hr	21.11	18.89	84.4	7.78	98.8

[Z] 次氯酸溶液：衛康公司 +HOCL 微酸電解水；

[Y] KNF2016：韓國京農公司產生物農藥由 *Pseudomonas oleovorans* 生成的 virucide，宣稱可去除 CGMMV 及 ZYMV；

[X] 保麗淨假牙清潔錠：過硫酸鉀、過碳酸鈉等殺菌劑，Polident Denture Cleanser, Block Drug, USA。

利用農桿菌媒介蛇麻矮化類病毒並探討其對瓜類作物的影響 類病毒是目前已知最小病原體之一，由裸露的環狀單股 RNA 組成，組成類病毒的 RNA 多數大小約 250~400 bases 左右，具有高度互補的穩定二級結構。蛇麻矮化類病毒 (*Hop stunt viroid*, HSVd) 由 294~304 個核苷酸組成，屬於馬鈴薯紡錘型塊莖類病毒科、蛇麻矮化類病毒屬。HSVd 寄主範圍廣泛，除啤酒花之外，也危害李、杏仁、桃、杏桃、梨、葡萄、柑橘和瓜類作物。臺灣在 84 年已有 HSVd 感染柑橘的紀錄，為了探討其對瓜類作物的影響，利用基因合成於 Ti 質體構築 HSVd 的 infectious clone，轉殖於農桿菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 後，以 *A. tumefaciens* 菌液穿刺接種於供試瓜類作物，觀察 HSVd 對其影響。臺灣常見的瓜類作物感染 HSVd 時，呈現的病徵嚴重程度不一。瓠瓜 (農友葫蘆)、冬瓜 (吉樂) 及西瓜 (金蘭) 罹病後出現心葉嚴重萎縮，逐漸死亡等嚴重病徵；胡瓜 (鳳燕)、甜瓜 (銀輝)、洋香瓜 (翊君) 及絲瓜 (七美) 出現心葉變小變形，生長受阻，無法結果等病徵。夏南瓜 (如意)、山苦瓜及苦瓜 (大美珠) 可自接種植株檢測到 HSVd，但生長狀況與未接種植株一般無差異；南瓜 (仙姑) 接種 3 次，未檢測到 HSVd 感染植株。利用 HSVd 感染胡瓜出現明顯可見病徵，探討其病原性是否穩定，試驗以花胡瓜病葉為材料，以 10 倍 (W/V) 研磨汁液靜置 4℃冰箱 6 小時後，再經 1 次及 2 次高溫高壓滅菌為接種源接種花胡瓜，觀察病徵並檢測是否感染。以靜置於 4℃為接種源的處理，所有接種植株都出現病徵 (圖 6-2)，經 1 次及 2 次高溫高壓滅菌之接種源處理者，所有接種植株均無病徵，亦未測到 HSVd。試驗中所建立的檢測系統，亦應用於田間及市售瓜類種子，進行 HSVd 之調查。

圖 6-2 蛇麻矮化類病毒 (*Hop stunt viroid*, HSVd) 接種鳳燕品種花胡瓜出現漣葉及節間縮短之病徵 (圖左)，右圖為未接種之對照。

免疫檢測法探討百香果 *Telosma mosaic virus* (TeMV) 於植株分布及混合抗體法對此病毒之檢測效果 百香果 (*Passiflora* spp.) 有「果汁之王」美稱，可鮮食也可製成果汁 (凍) 或果醋等加工產品。臺灣的百香果以「台農 1 號」為主力品種，栽培面積逐年增加，106 年已達 679.6 公頃，鮮果產量 11,546.8 公噸及產值達 8.02 億元，為具高經濟價值之果樹作物。病毒病害為百香果生產之主要限制因子，尤其受木質化病毒感染後，造成果實木質化或畸型變小、果汁率低、風味變差，對品質與產量影響鉅大。國際間百香果病毒紀錄約 20 種，*Telosma mosaic virus* (TeMV) 為 *Potyvirus* 屬病毒，首次由 Ha *et.al.* 等學者於 97 年發表，感染夜香花 (*Telosma cordata*) 引起嵌紋病徵；泰國學者 (Chiemsombat *et. al.*) 於 103 年首次發表其可引起百香果植株葉片嵌紋及果實木質化徵狀，中國大陸也於百香果上發現此病毒；106 年臺灣學者 (蔡等) 證實此病毒於百香果上發生，人工接種於黃百香果上可引起系統性嵌紋病徵。本研究於 105 年利用人工基因合成方式，將國外發表之 TeMV 全長度鞘蛋白核酸片段構築於表現載體 pET28b(+) 上，作為核酸檢測用正對照品，並進行表現蛋白誘導，製備出對應此病毒之多元抗體以應用於免疫檢測法。本研究發現 TeMV、EAPV-AO 和 EAPV-IB 之間互有血清反應關係，以間接式 - 酵素連結免疫吸附反應 (indirect enzyme-linked immunosorbent assay, indirect ELISA) 檢測結果，顯示 3 種抗體可互相檢出彼此的罹病組織對照抗原，尚無法對此 3 種病毒做專一性的鑑別區分。本研究進一步以人工接種法獲得單獨感染 TeMV 之黃百香果植株作為材料，以 indirect ELISA 檢測罹病植株葉片及根部組織之 TeMV，發現葉片和根部均可檢出此病毒；另採樣不同黃百香果植株接種 TeMV 後之葉片和根樣品，分別進行 25x、50x、75x 和 100x 之稀釋，再取此等不同稀釋後之罹病材料共 104 個，以 indirect ELISA 法分別以 EAPV-AO、EAPV-IB 和 TeMV 多元抗體進行檢測，結果顯示以等比例混合之 EAPV-AO 和 EAPV-IB 抗體作檢測，可檢出之樣品對象與以 TeMV 抗體檢測者之檢出率相同。TeMV 為近年來亞洲地區新鑑定可感染百香果之病毒，同樣引起百香果木質化徵狀，本研究顯示以免疫檢測法篩檢 TeMV 時，除可直接使用 TeMV 抗體外，混合兩種 EAPV 多元抗體可作為篩檢 TeMV 之替代用抗體。

萵苣嵌紋病毒媒介昆蟲傳播特性 以無帶病毒棉蚜餵食萵苣嵌紋病毒 (*Lettuce mosaic virus*, LMV) 單斑分離病毒株將病毒接種至健康圓葉菸草，用以研究媒介昆蟲的傳播特性。以 2 隻帶 LMV 蚜蟲餵食圓葉煙草或萵苣幼苗 10 天後即可出現病徵，若同時接種 5 隻帶病毒蚜蟲，傳毒效率可達 70%，接種 10 隻帶 LMV 蚜蟲，傳毒效率可達 100%(表 6-2)。蚜蟲獲毒的溫度為 15℃時，傳毒效率為 40%，若獲毒溫度為 25℃時，傳毒效率可達 100%；蚜蟲接種溫度為 15℃時，傳毒效率為 60%，接種時溫度若為 25℃，傳毒效率可達 100%(表 6-3)。蚜蟲獲毒或接種取食時間為 10 分鐘，即可傳播病毒，若蚜蟲獲毒取食時間為 40 分鐘，傳毒效率可達 100%；若蚜蟲接種取食時間為 60 分鐘，傳毒效率可達 100%(表 6-4)。供試接種植物愈大，傳毒效率愈差。利用黃色黏板、清潔劑及油類等非農藥防治植物保護資材評估對於蚜蟲的防治效果。黃色黏板主要針對有翅型蚜蟲進行防治，防治率可達 70% 以上。以 35% 無患子濃縮液稀釋 50 倍直接噴灑於飼養蚜蟲的萵苣葉面上，分別於 2、4、8、24、48 小時後計算蚜蟲防治率 (死亡率)，分別為 20%、30%、40%、50%、60%；35% 無患子濃縮液稀釋 100 倍的蚜蟲防治率 (死亡率)，分別為 18%、25%、28%、47%、55%；99% 礦物油稀釋 300 倍的蚜蟲防治率 (死亡率)，分別為 30%、37%、45%、56%、78%。

表 6-2 不同帶毒棉蚜蟲數對於傳播萵苣嵌紋病毒效率之影響

蟲數 [Z]	傳播效率 [Y](%)
0	0 (0/10)
1	30 (3/10)
2	40 (4/10)
5	70 (7/10)
10	100 (10/10)
20	100 (10/10)

[Z] 蚜蟲於病株獲毒取食 48 小時後，移至健株接種取食 48 小時。

[Y] 傳播百分率 (發病株數 / 接種株數)。

表 6-3 不同溫度下獲毒或接種取食對棉蚜傳播萵苣嵌紋病毒效率之影響

溫度 (℃)	傳播效率 [Z](%)	
	獲毒 [Y]	接種 [X]
15	40 (9/10)	60 (6/10)
20	80 (10/10)	90 (9/10)
25	100 (10/10)	100 (10/10)
30	80 (4/10)	60 (6/10)
35	20 (2/10)	10(1/10)

[Z] 傳播百分率 (發病株數 / 接種株數)。

[Y] 蚜蟲於不同溫度下獲毒取食病株 48 小時。(每株接種 10 隻蚜蟲)。

[X] 蚜蟲於不同溫度下取食健株 48 小時。(每株接種 10 隻蚜蟲)。

表 6-4 不同獲毒或接種時間對於綿蚜傳播萵苣嵌紋病毒效率之影響

時間 (min)	傳播效率 [Z](%)	
	獲毒時間 [Y]	接種時間 [X]
0	0 (0/10)	0 (0/10)
10	30 (3/10)	10 (1/10)
20	70 (7/10)	10 (1/10)
30	80 (8/10)	20 (2/10)
40	100 (10/10)	60 (6/10)
50	100 (10/10)	80 (8/10)
60	100 (10/10)	100 (10/10)

[Z] 傳播百分率 (發病株數 / 接種株數)。

[Y] 蚜蟲於病株取食不同時間，移至健株接種取食 48 小時。(每株接種 10 隻蚜蟲)。

[X] 蚜蟲於病株取食 48 小時後，移至健株接種取食不同時間。(每株接種 10 隻蚜蟲)。

真菌病害

設施番石榴病蟲害整合管理技術之研發 番石榴為臺灣重要果樹產業之一，常見病害包括炭疽病 (*Colletotrichum gloeosporioides*)、瘡痂病 (*Pestalotiopsis psidii*) 及黑星病 (*Phyllosticta psidiicola*) 等，本研究利用前期試驗結果良好之非農藥植保製劑，包括農試所研發之肉桂油乳劑 A(黑修羅)、肉桂油乳劑 B(炭無踪)、石灰硫磺合劑及 4-4 式波爾多液等 4 種非農藥防治資材，防治番石榴常見之真菌病害。番石榴種苗要進入溫室種植前，先浸泡 4-4 式波爾多液及植物油混方，種植後調查皆無病害發生。調查害蟲主要有棉蚜 (*Aphis gossypii Glover*) 為害，利用每週定期噴施植物油混方 200 倍可有效降低蟲害之發生，棉蚜之為害密度可控制在平均每葉片 10 隻以下。

百香果安全生產體系之建構 於埔里設立試驗田，試驗田劃分為一般農民慣行區及試驗區，分別施用藥劑，試驗區主要為減少農藥及配合非化學農藥使用，於果實生產期調查病蟲害發生情形，調查結果主要發生之病害為疫病及褐斑病，罹病率分別為 5.0%、5.3% 及 1.3%、1.3%，危害情形在慣行區與試驗區並無顯著差異；主要發生之蟲害為熱潛蠅，慣行區及試驗區之危害率分別為 50.3% 及 40.3%(表 6-5)。百香果頸腐病目前並無推薦藥劑可供使用，利用非化學農藥植保製劑，包括：活力能、黑修羅、黴挫、炭無踪、4-4 式波爾多液及石灰硫磺合劑等，測試對頸腐病病菌之菌絲抑制效果，結果以黑修羅及炭無踪稀釋 500 倍效果最佳，能完全抑制病菌菌絲生長。

表 6-5　107 年埔里百香果病蟲害調查結果

病蟲害種類	慣行區 (罹病率 / 危害率)					試驗區 (罹病率 / 危害率)				
	I	II	III	IV	平均	I	II	III	IV	平均
疫病	4	5	5	6	5.0	5	5	5	6	5.3
褐斑病	1	2	1	1	1.3	1	1	2	1	1.3
熱潛蠅	56	52	48	45	50.3	46	25	45	45	40.3

培養基與田間試驗篩選可有效抑制紅龍果濕腐病之藥劑 由 *Gibertella persicaria* (E. D. Eddy) Hesselt 引起之紅龍果濕腐病，除造成花苞及幼果損失外，若未防治妥善則可再次感染成熟果實，造成嚴重損失。本研究室於培養基上篩選可抑制 *G. persicaria* 菌絲生長及發芽之化學合成藥劑如：扶吉胺與賽普護汰寧，另非化學合成藥劑如黑修羅（肉桂精油製劑）亦有抑制效果，並於田間以隨機完全區集設計試驗 (RCBD) 確認，扶吉胺、賽普護汰寧與黑修羅可顯著降低「花苞以及幼果」折損率，平均防治率各別為 46.9%、30.6%、22.2%。扶吉胺與賽普護汰寧為植保手冊上推薦於防治紅龍果炭疽病之用藥，為紅龍果之合法用藥，可立即推廣使用。

臺灣葡萄晚腐病之研究初報 葡萄晚腐病為臺灣葡萄最嚴重之病害，對產量影響甚鉅，為葡萄生產主要限制因子。本研究室自 104 年起，觀察到葡萄園區內罹病幼果在即將進入轉色期時出現紫褐色病斑，並帶有紫紅色暈圈；果實轉色後至成熟期間，罹病葡萄果實之病斑褐化，出現點狀、同心圓排列之黑色分生孢子盤，在環境適合下會產生大量橘色菌泥等典型已知之葡萄晚腐病徵。將蒐集之菌株進行多重序列分析，選擇 *ITS*、*actin*、 *b-tubulin*、*GAPDH* 以及 *chitin synthase* 等共 5 個基因，與其他已知菌種作親緣關係比對，結果顯示葡萄晚腐病菌株之種類包括 *Colletotrichum viniferum* 及疑似之新種，其中此疑似新種分離率非常高，且分布於臺灣主要產區，為臺灣主要葡萄晚腐病之病原。目前已透過葡萄成熟果實接種完成科霍氏法則，確認 *C. viniferum* 以及疑似新種之病原性。

強降雨導致臺灣作物疫病日趨嚴重 氣候變遷 (climate change) 導致極端氣候事件 (extreme weather events) 發生次數增加，在臺灣最明顯的極端氣候事件是強降雨 (heavy rainfall) 的頻率增加。多種作物病害可藉由強降雨傳播、感染，其中以疫病菌 (*Phytophthora spp.*) 引起之病害日趨嚴重，常導致作物根腐、裾腐、葉枯、枝枯、果腐 (圖 6-3)，甚至死亡，常發生的病例有：瓜類作物疫病（*P. melonis* 與 *P. capcisi*）、蘭花疫病（*P. palmivora*）、百香果疫病 (*P. nicotianae*)、青蔥疫病 (*P. nicotianae*)、文旦褐腐病 (*P. citrophthora*、*P. palmivora*)、木瓜疫病 (*P. palmivora*)、鳳梨心腐病 (*P. nicotianae*）。107 年的 7、8 月，在臺灣中南部發生短延時強降雨（short period heavy rainfall，在數小時的時間內降下大量的雨水），造成作物栽培田區淹水，青蔥疫病與文旦疫病在強降雨而造成植株淹水的環境下，在放晴後迅速出現全面性的作物受害，常被誤認為純粹是淹水而造成作物生長不良或果實腐敗，然而研究結果顯示，這些問題皆是由疫病菌所造成。在全球暖化、氣候變遷的大趨勢下，臺灣未來遭受強降雨襲擊的頻率也會增加，而由疫病菌引起的病害也將會更普遍與嚴重，本所針對強降雨造成的作物疫病正研發一套預警與防範系統，以降低氣候變遷引起的病害對作物栽培之衝擊。

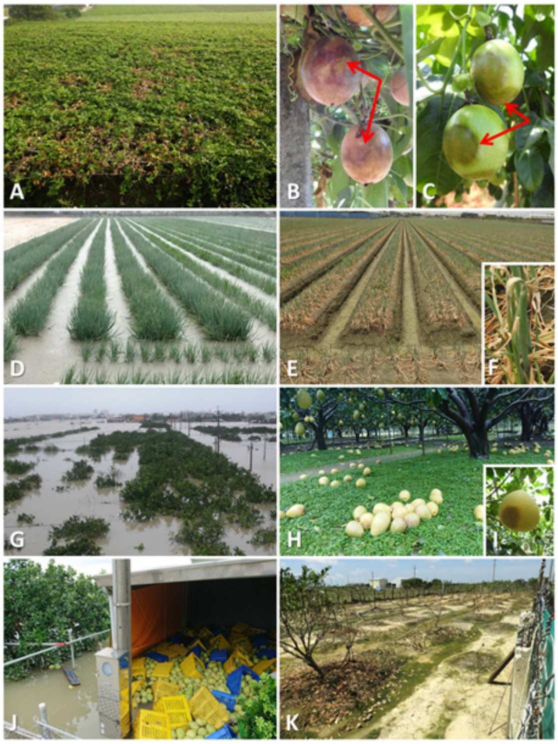

圖 6-2 近年來在臺灣常發生因強降雨造成作物嚴重之疫病。(A-C) 百香果栽培區因颱風加上強降雨而枝葉與果實發生嚴重疫病；(D) 青蔥栽培田區淹水；所有植株感染疫病嚴重 (E、F)；(G) 文旦栽培田區淹水；(H、I) 造成田間植株上的果實感染疫病而易落果與褐腐；(J) 倉庫存放的採收果亦因浸水感染疫病而褐腐；(K) 新植苗也因浸水感染疫病而死亡。

蝴蝶蘭花瓣斑點病之病原特性及防治藥劑篩選 蝴蝶蘭為蘭科 (*Orchidaceae*) 蝴蝶蘭屬 (*Phalaenopsis*) 之重要經濟作物，其名是由希臘文的 phalaina(蝶蛾) 與 opsis(形象) 兩字結合命名而來，主要以其花型有如蝴蝶翩翩飛舞而得名。本研究室於 106 年 4 月在臺南地區一處蘭園，發現蝴蝶蘭花瓣上產生褐色圓形凹陷病斑，大多數病斑產生後不會繼續擴大，但嚴重影響花卉觀賞品質，此新病害依病徵形態命名為蝴蝶蘭花瓣斑點病 (petal spot)。由罹病組織所分離之可疑病原菌，於 PDA 平板培養時產生黑灰色茂密菌絲，其分生孢子 (conidia) 為褐色至深褐色、長橢圓形，於分生孢子末端突出黑褐色之臍 (hilum)。所分離之病原菌依據科霍氏法則 (Koch's postulates) 完成病原性測定，並由接種蝴蝶蘭之病徵表現、病原菌形態特徵及分子鑑定結果等將病原菌鑑定為 *Exserohilum rostratum* (Drechsler) Leonard & Suggs。本病菌最適菌絲生長溫度為 28℃，而最適孢子發芽溫度為 24℃ ~36℃。病原菌不僅為害白花蝴蝶蘭 (*Phalaenopsis* Sogo Yukidian ‘V3’) 外，亦可在粉黃花 (*Phal.* Green Pixie ‘Ever Green’) 及桃紅 (*Phal.* Queen Beer ‘Mantefon’) 蝴蝶蘭、黃花文心蘭 (*Oncidesa* Gower Ramsey ‘Honey Angel’)、嘉德麗雅蘭 (*Cattleya* Chien Ya 'Ocean’) 及白花萬代蘭 (*Vanda* Princess ‘Mikasa White’) 之花瓣上造成類似病徵。測試殺菌劑對本菌之菌絲生長及孢子發芽之影響，結果顯示快得寧、撲滅寧、待克利及依普同在 10 mg a.i. L^{-1} 有效濃度下對菌絲生長抑制率均可達 90% 以上，而快得寧、鋅錳乃浦、四氯異苯腈及氫氧化銅在 10 mg a.i. L^{-1} 有效濃度下則可顯著降低病原菌之孢子發芽率。另外，測試非化學農藥防治資材及次氯酸鹽類對本菌分生孢子發芽影響，結果顯示活力能、黴拴及次氯酸鹽類等稀釋溶液處理下，可顯著降低本菌之孢子發芽率。

萬代蘭根尖黑腐病的發生 在臺中、彰化、屏東等地栽培之萬代蘭園內，發生萬代蘭由根尖開始黑化，通常僅會造成根尖黑化縊縮，致根系停止生長，發病率介於 10~15% 之間。嚴重發病之植株，根尖黑化會往上蔓延，造成根系褐化腐敗。由田間採回根尖黑腐病罹病株，切下罹病根尖片段，以 WA 平板培養基於實驗室進行病原菌分離，結果在罹病組織部位，可分離得到 *Fusarium* 屬的真菌分離株，而該同一菌落形態的 *Fusarium sp.* 分離率為 85%。再以光學顯微鏡進行形態學觀察，所分離菌株的大孢子為鐮胞狀，3~4 胞，具有足細胞與頂細胞，小孢子為橢圓形至短桿狀，分生孢子呈假頭狀著生於分生孢子梗上，而分生孢子梗長度通常會大於大孢子長度的 5~6 倍。厚膜孢子圓形，可單生於菌絲尖端。根據以上病原菌孢子形態的觀察，再參考 Summerell 等人及 Leslie 與 Summerell 所描述的鐮胞菌孢子著生方式與形態，鑑定所分離的菌株為 *Fusarium solani*。挑選其中 TJP-20161111_01、TJP_20161103_02、TJP_20161104_02 與 TJP_20161112_03 等 4 分離株，並以無菌水與蝴蝶蘭黃葉病菌 TJP-2178_10 為對照組，在溫室以菌絲塊接種於供試植株的根尖人工傷口部位。接種 8 天後，結果供試菌株 TJP_20161111_01、TJP_20161103_02、TJP_20161104_02、TJP_20161112_03 與 TJP_2178_10 的發病率分別 57%、40%、17%、70% 與 73%，無菌水對照組則不發病。接種株也可產生與田間相同的病徵，包括於接種部位出現根尖黑化與縊縮，嚴重時造成根腐。由罹病部位又可重新分離得到 *F. solani* 分

離株，因此本研究確認本病害為萬代蘭根尖黑腐病 (root tip black rot of Vanda)。再利用分子生物技術鑑定供試菌株 TJP_20161111_01，結果 TJP_20161111_01 菌株之 ITS 序列與 NCBI 資料庫之 *Fusarium solani* KX929306.1(GenBank accession number) 達 100% 之相似度，佐證 TJP_20161111_01 為 *F. solani*。取 16 種供試化學藥劑測試其對萬代蘭根尖黑腐病菌絲生長的影響，其中 41.8%thiabendazole(腐絕) 與 50% prochlorate manganese(撲克拉錳) 的抑制效果最為明顯，80 ppm 萬代蘭根尖黑腐病菌絲即無法生長。

稻熱病菌病原性與水稻抗性關係之研究 為瞭解臺灣稻熱病菌族群病原性與無毒力基因 (*Avr-genes*) 之組成及地理分佈狀況，本研究以麗江新團黑穀單基因系 (LTH MLs) 與國內水稻商業品種對國內稻熱病菌群進行病原性分析，並利用專一性引子對檢測菌株 *Avr-genes* 組成結構。針對 107 年蒐集之 202 株稻熱病菌株病原性檢測結果顯示，抗病基因 *Pi12*、*Pita2*、*Piz* 與商業品種：台中秈 10 號、台農 84 號、台農 79 號、臺東 30 號等對國內稻熱病菌族群抗性表現最好。另，從 465 株稻熱病菌株之 *Avr-genes* 組成分析結果，超過 95% 菌株可增幅出 *Avr-Pita*、*Avr-Pik*、*Avr-Pib* 的 PCR 產物，其次 *Avr-Pi9*、*Avr-Pizt*、*Avr-Pia* 與 *Avr-Pii* 的檢出率分別為 71.6%、35.3%、18.7% 和 0%。為瞭解稻熱病菌族群病原性與 *Avr-genes* 組成之關聯性，進一步將兩者檢測結果與寄主品種進行族群遺傳結構與地理親緣性分析。結果顯示，西部地區菌相較東部地區複雜、南部地區菌相較北部地區複雜；且稻熱病菌族群的病原性與 *Avr-genes* 組成地理分佈明顯與水稻品種的分佈區域有關。

利用亞磷酸類物質防治甘藷基腐病之可行性評估 本研究由中和亞磷酸 (NPA) 及亞磷酸二氫鉀對甘藷基腐病菌 (*Phomopsis destruens*) 之菌絲生長及胞子發芽抑制影響試驗結果中發現，NPA 及亞磷酸二氫鉀對甘藷基腐病菌之菌絲生長及胞子發芽均具有抑制作用，且隨著濃度之提高其抑制作用更為明顯。如培養基內若含 0.33 gL^{-1} 之 NPA，則對甘藷基腐病菌之菌絲生長抑制率為 66.5%，NPA 含量若增至 2 gL^{-1} 則菌絲生長抑制率達到 85.1%。另外就不同濃度 NPA 對甘藷基腐病之胞子發芽影響結果顯示，0.33 gL^{-1} 至 2 gL^{-1} 之 NPA 對基腐病菌之胞子發芽有顯著抑制作用，不論何種濃度的 NPA 處理的基腐病菌胞子發芽率均在 10% 以下，而亞磷酸二氫鉀之處理亦有類似的結果。另外利用 NPA 及亞磷酸二氫鉀澆灌於接種甘藷基腐病菌之甘藷苗後發現，1 gL^{-1} 濃度以上之 NPA 或亞磷酸二氫鉀均可顯著降低甘藷基腐病之發病率，以上結果顯示亞磷酸及亞磷酸二氫鉀具有防治甘藷基腐病之潛力。

荔枝炭疽病害防治技術之研究 本研究為了解化學藥劑對防治荔枝採後儲藏期炭疽病的效果，先前已收集臺南楠西、嘉義分所、嘉義竹崎及雲林古坑荔枝果實，進行保濕試驗，並分離其採後儲藏期之炭疽病菌株，於本年進行藥劑平板試驗。13 支推荐藥劑中，以得克利 (Tebuconazole) 對所有地區菌株的菌絲生長抑制效果較佳，克熱淨 (Iminoctadine)、賽普護汰寧 (Cyprodinil+Fludioxonil) 對臺南楠西及嘉義竹崎之菌株較有效，腐絕快得寧 (Thiabendazole+Oxinecopper) 及甲基多保淨 (Thiophanate-methyl) 則對嘉義及雲林古坑菌株較有效。另外由孢子發芽試驗得知，腈硫醌 (Dithianon) 對孢子發芽具有最好的抑制效果，腐絕快得寧次之。於嘉義分所進行田間試驗，結果顯示，於採收前 10 天及 20 天各施用一次腐絕快得寧，可顯著降低採後荔枝果實在採後儲藏期的炭疽病罹病率及果實腐敗率。綜合歷年之試驗結果，從藥劑平板試驗可知，得克利、待克利對各地區菌株都有效；田間藥劑試驗發現，開花前、花期雨季及謝花期施用一次賽普護汰寧、亞托待克利及腐絕快得寧可降低採後炭疽病害發生，另外在採收前 10 天及 20 天各施用一次腐絕快得寧，可降低採後炭疽病發生及果實腐敗的機率。然而不同地區的菌株可能對 Benzimidazoles 及 Thiophanates 類藥劑具抗性，故推荐藥劑時，仍需考量不同地區因素。

細菌病害

南瓜青枯病之發生 在 106 年於臺中市新社地區的 1 處南瓜栽培田區，植株出現萎凋病徵，剖開莖部發現維管束褐化，經切取莖部罹病組織在光學顯微鏡下觀察，可見大量細菌湧出，疑似細菌性病害。從該罹病莖部組織分離病菌，可在 TTC 培養基培養出中間粉紅色，周圍白色流質狀之單一菌落，與常見茄科青枯病菌落型態相似，將該菌接種在萬國士煙草可誘導煙草葉片產生過敏性反應。再以 Biolog 細菌鑑定系統分析該菌，結果顯示病原菌為 *Ralstonia solanacearum*。進一步以青枯病菌專一性引子 Au759f 及

Au760r 及鑑別青枯病菌演化型之引子對 Nmult21:1F、Nmult21:2F、Nmult23:AF、Nmult22:InF、Nmult22:RR，對該菌進行複合式聚合酶連鎖反應 (Multiplex PCR)，增幅出 280 bp 及 144 bp 之特異性片段，因此將此細菌鑑定為第 1 演化型之青枯病菌。在生化型測定部分，該菌可氧化 lactose、maltose、cellobiose，並利用 mannitol、sorbitol、dulcitol、trehalose 等醣類，屬於第 3 生化型。至病原性部分，將該菌接種至南瓜植株，可產生莖部維管束褐化及萎凋病徵，與田間所見病徵相似，且可回分離出相同細菌，完成科霍氏法則驗證。

臺灣水稻白葉枯病菌病原型與水稻抗性關係之研究 目前利用含有單一抗白葉枯病菌基因的近等基因水稻品系 IRBB lines 檢測臺灣田間白葉枯病菌株之病原型，可將 76 個臺灣白葉枯病菌株分成 18 群，107 年檢測從 5 個縣市蒐集的 23 個臺灣白葉枯病菌株，結果顯示分別屬於第 2、5 及 6 群，其中以第 5 群 (在 IRBB4、 IRBB5、 IRBB7 和 IRBB21 上呈現抗性反應) 為最大群，可應用的抗性基因仍為 *Xa4*、*xa5*、*Xa7* 和 *Xa21*。於溫室種植台中 194 號 (TC194)、台中秈 10 號 (TCS10)、台南 11 號 (TN11)、台東 30 號 (TT30)、台稉 2 號 (TK2)、台稉 9 號 (TK9)、台稉 11 號 (TK11)、台農 67 號 (TNG67)、台農 71 號 (TNG71) 和台農秈 22 號 (TNGS22) 等 10 個品種，並檢測其對不同病原型之白葉枯病菌的抗感病性，結果顯示目前 10 個品種除菌株 XN15、XF89b、XO12 和 XO8 分別在品種 TN11、TK2、TK9 以及 TNG71 上呈抗性反應 (病斑長度分別為 8.9、9.9、8.0 和 9.4 公分) 外，其餘呈感病反應 (病斑長度大於 10 公分)。

馬鈴薯關鍵性病害防治技術之研究 青枯病是由病原細菌 *Ralstonia solanacearum* 引起之萎凋性病害，為茄科作物生產之重要限制因子，目前多以健康種薯、土壤處理及 作等方式加以管理。本研究藉由施用亞磷酸與氫氧化鉀以 1:1(w/w) 方式配製成亞磷酸 - 氫氧化鉀中和液 (neutralized phosphorous acid solution, NPA)，於溫室條件下評估不同使用方法及不同濃度，連續施用 4 次後對馬鈴薯青枯病之防治效果。相同濃度下比較土壤澆灌法與葉片噴施法之防治效果發現，土壤澆灌法處理之植株罹病度為 40%，而利用葉片噴施法處理為 92%，顯示以土壤澆灌法使用亞磷酸溶液的防治效果較葉片噴施法更能降低罹病度。進一步於溫室試驗中利用土壤澆灌法評估不同 NPA 濃度對青枯病之發病影響，結果顯示 0.05~2% NPA 均可降低馬鈴薯青枯病之罹病度，其中以高濃度 1% 及 2% 效果最佳，罹病度皆為 0%，其次則為中濃度之 0.1~0.5% NPA，罹病度為 36.67~46.67%，低濃度 0.05% NPA 防治效果較不顯著，罹病度為 83.33%。然而，施用高濃度 2% NPA 時，會導致馬鈴薯植株生長出現矮化及地下部無法結薯的情形，故建議使用濃度不宜超過 1%，以避免藥害產生。

生物防治

開發具有誘導蔬菜作物產生抗病能力之資材 比較施肥及接種前施用菌液等不同處理對微生物防治胡瓜抗炭疽病的效果，由結果可知施肥且接種前處理菌液抑制胡瓜炭疽病的效果最佳，接種胡瓜炭疽病前需處理菌液，且處理菌液者需有足夠的肥料支持植物生長，方能使微生物誘導抗病的效果較為穩定。在施肥及菌液處理下 Lnt-2、P1-7-1、P2-2、T3-2-4、Lop-2、Twt-2 防治效果較為穩定，因此選擇此 6 菌株，抽取其胞內與外泌蛋白質抗病誘導因子分析。除了浸種，胡瓜定植後每週施用蛋白質，Lnt-2 胞內及 T3-2-4 胞內蛋白對於胡瓜植株株高、鮮重皆有顯著影響。其中 Lnt-2 胞內、Lop-2 胞內、T3-2-4 胞外及 P2-2 胞內蛋白對抗白粉病有顯著之效果。